Lane Medical Library

Zur
Kenntnis der Nebennierenenzyme

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

AN DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT

ZU BERLIN.

VON

Elisabeth Titze

aus Großdobritz bei Meißen

Tag der Promotion: 5. August 1915

Emil Ebering, Berlin NW., Mittelstr. 39.

1915

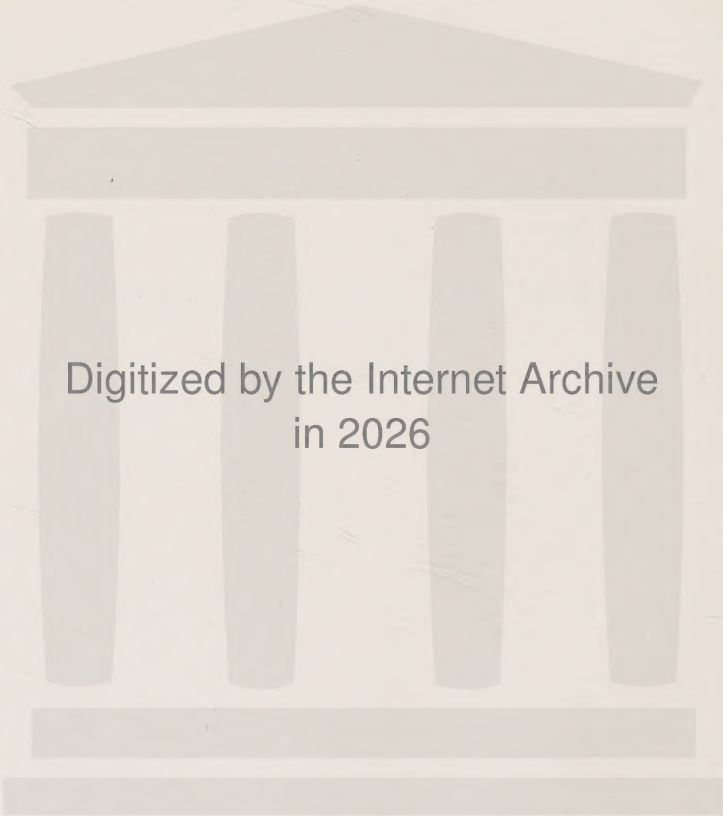
Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. **Bier.**
Referent: Prof. Dr. **Rubner.**

Zur Kenntnis der Nebennierenenzyme.


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153524_0315

Die Nebenniere besteht — wie bekannt — aus zwei histogenetisch verschiedenen Teilen: der Rinden- und der Marksubstanz. Erstere ist epithelialen Ursprungs, letztere stammt vom Sympathicus ab und enthält die chromaffinen Zellen, d. h. Zellen, die dadurch ausgezeichnet sind, daß sie sich mit den Salzen der Dichromsäure braun färben. Diese Zellen sondern das Adrenalin ab, „dessen Bildung in den Zellen direkt beobachtet werden kann".[1]

Diejenige Funktion der Nebenniere, die bisher als Hauptfunktion erkannt worden ist, ist die Entsendung des Adrenalins in das Blut. Das Adrenalin wirkt blutdrucksteigernd sowohl durch Verstärkung der Herzarbeit, als auch durch hochgradige Kontraktion peripherer Gefäße (von Fürth[2]) und Kobert[4]). Aus dieser physiologischen Wirkung ergibt sich auch die therapeutische Aufgabe des Adrenalins.

Ist durch den Ausfall beider Nebennieren der Tod des Individuums bedingt?

Von Fürth schreibt:[3]) „Brown-Séquard habe im Jahre 1856 aus seinen Versuchen den Schluß gezogen, daß der Wegfall beider Nebennieren innerhalb kurzer Zeit zum Tode führt. Biedl habe darüber Versuche angestellt und erfahren, daß die Tiere nur am Leben bleiben, wenn man ihnen etwas Rinde läßt."

---

[1]) Zitiert nach Neußer und Wiesel: „Die Erkrankungen der Nebennieren". Wien und Leipzig 1910. Seite 14.

[2]) v. Fürth: Probleme der physiologischen und pathologischen Chemie. 1. Gewebschemie, Seite 424. Leipzig 1912.

[3]) Ebenda, Seite 415—416, nicht wörtlich zitiert.

[4]) Kobert: Lehrbuch der Intoxikationen. II. Band. Spezieller Teil. Seite 12, 38.

Von der Funktion der Rinde ist noch wenig bekannt. Die Adrenalinabsonderung findet, wie Biedl[5]) und Wiesel[6]) mit Sicherheit festgestellt haben, nur im Mark statt. Da aber auch die Rinde nicht ohne Schaden für den Organismus entfernt werden kann, so wird man daraus schließen müssen, daß, trotzdem sie nicht an der Adrenalinproduktion beteiligt ist, sie eine „unbedingt lebenswichtige, durchaus hochwertige Drüse mit innerer Sekretion darstellt." (Neußer und Wiesel). Diese Autoren meinen, daß die „Rinde am ehesten eine entgiftende Tätigkeit entfaltet, jedenfalls innigste Beziehungen zu dem Adrenalinstoffwechsel hat." (Seite 76).

Unter vikariierender Funktion versteht man bekanntlich das Inkrafttreten eines Organs für ein erkranktes von gleicher Beschaffenheit. Einen solchen Zusammenhang scheint von Fürth[7]) gefunden zu haben zwischen den Nebennieren einerseits und der Karotisdrüse und einem chromaffinen Gewebe am Herzen nahe dem Ursprung der linken Coronararterie andererseits. Er schreibt: „Die Exstirpation der Nebennieren hat nicht den Tod des Versuchstieres notwendigerweise zur Folge" und spricht die Vermutung aus, daß die oben genannten „Paraganglien" vikariierend nach Exstirpation der Nebennieren eintreten. Ebenso schreiben Neußer und Wiesel Seite 24: „Das lange Ueberleben von Tieren nach beiderseitiger Nebennierenexstirpation, das einzelne Autoren beobachten, ist fraglos auf die Existenz von akzessorischer Rinde und Paraganglien zu beziehen."[8]) Demnach scheinen die Autoren jetzt darin übereinzustimmen, daß der Tod des Versuchstieres in kürzerer oder längerer Zeit unbedingt erfolgt, wenn nicht etwas Nebenniere zurückbleibt, bezw.

---

[5]) Biedl, Innere Sekretion 1910. Wien.

[6]) Neußer und Wiesel: „Die Erkrankungen der Nebennieren". Wien und Leipzig 1910.

[7]) Gewebschemie. Seite 407.

[8]) Neußer und Wiesel: „Die Erkrankungen der Nebennieren". Wien und Leipzig 1910.

eine Uebernahme der Nebennierenfunktion durch akzessorische Nebennieren oder Paraganglien mit chromaffinen Zellen erfolgt. Es sind nach doppelseitiger Nebennierenexstirpation Störungen von seiten des Nervensystems, von seiten der Digestionsorgane beobachtet worden. Vor allem aber tritt eine starke Herabsetzung des Blutdrucks ein, die schließlich den Tod zur Folge hat. Somit erweist es sich, daß die Nebennieren durchaus lebenswichtige Organe sind.

Die klinisch wichtige Krankheit, die durch chronische Insuffiziens der Nebennieren hervorgerufen wird, ist der von Addison im Jahre 1855 zuerst beschriebene und nach ihm benannte Morbus Addisonii. Addison schildert ihn als eine „idiopathische Anaemie," die mit großer Apathie, mit Störungen von seiten des Digestionstraktes und des Nervensystems sowie mit einer bronzefarbenen Pigmentierung der Haut einhergeht und unter dem Bilde fortschreitender Kachexie sicher zum Tode führt."[9])

Es steht heute fest, daß die Addisonsche Krankheit selten primär, meist infolge von Tuberkulose der Nebennieren, zuweilen durch Syphilome, Karzinome, Hypernephrome hervorgerufen wird.

Während der Addisonschen Krankheit eine Hypo- bezw. Afunktion der Nebennieren zu Grunde liegt, so hat auch eine Hyperfunktion derselben Schädigungen im Gefolge, und zwar soll ein erhöhter Adrenalingehalt des Blutes eine Art Atheromatose der Arterien verursachen, (Von Fürth): „eine seröse Durchtränkung der Media, hypertrophische Veränderungen der Gefäßmuskulatur, Schädigung der elastischen Elemente."[10]) Eine zweite Schädigung durch Hyperfunktion ist der sogenannte „Adrenalindiabetes." Dieser soll auf einer

---

[9]) Addison, On the effects of disease of the suprarenal bodies. London 1855.

[10]) Gewebschemie, Seite 428.

durch Adrenalinwirkung bedingten Abnahme des Leberglykogens und dadurch entstehender Glykosurie beruhen. Die erste Beobachtung darüber stammt von Blum.[11]) Dieser beobachtete, daß der Harn nach intravenöser oder subkutaner Zufuhr von Adrenalin zuckerhaltig wird. Aber es soll dabei außer der Glykogenumwandlung auch Zuckerbildung aus Eiweiß auftreten, da der Adrenalindiabetes auch bei glykogenfreigemachten Tieren vorkommt.[12]) Es bestünde demnach eine Wechselwirkung zwischen Nebenniere und Leber, bezw. zwischen Adrenalin und Glykogen. Wie diese Wechselwirkung ist, ob das Adrenalin zum Abbau des Glykogens beiträgt, ist außerordentlich schwer festzustellen. Einige Autoren sind der Meinung, daß das Adrenalin bei der Glykogenmobilisierung die Rolle eines Hormons spiele. Von Fürth sagt, daß „unsere Vorstellungen über die wirkliche Rolle des Suprarenins bei der physiologischen Zuckermobilisierung sehr wenig gefestigt sind."[13])

Um unsere Kenntnisse über die Funktionen der Nebenniere zu vervollständigen, erscheint es erforderlich, auch die eigenen Lebensbedingungen des Organs zu untersuchen. Ein wesentlicher Teil derselben ist an die Tätigkeit der Enzyme gebunden, die vielleicht an der Bildung der Hormone durch Abbau oder Synthese maßgebend beteiligt sind. Eine solche Untersuchung muß mit der Feststellung der vorhandenen wesentlichen Enzyme beginnen. Im chemischen Institute des Rudolph Virchow-Krankenhauses zu Berlin sind schon zahlreiche Untersuchungen über Organenzyme durch-

---

[11]) Blum. Deutsches Archiv für klinische Medizin. 71. S. 147. 1901.

[12]) Kobert: Lehrbuch der Intoxikationen. II. Band. Spezieller Teil. Seite 680. Stuttgart 1906.

[13]) v. Fürth. Stoffwechsellehre. Leipzig 1913.

geführt worden, so über die Enzyme der Ovarien,[14]) der Milz,[15]) der Plazenta,[16]) der Hypophyse.[17])

Auf Anregung von Herrn Professor Löb habe ich mich mit der chemisch-experimentellen Bearbeitung der Enzyme der Nebennieren beschäftigt. Als Material wurde Nebennierenpulver vom Schaf verwendet, das die chemische Fabrik Rhenania (Pankreatinabteilung) zur Verfügung stellte. Das Nebennierenpulver war in der Weise gewonnen worden, daß die Organe unmittelbar nach dem Schlachten dem Tier entnommen, gründlich gewaschen, zerkleinert und nochmals mit Wasser nachgewaschen wurden. Sodann erfolgte eine Nachbehandlung mit verdünntem, hierauf mit absolutem Alkohol zur Entwässerung. Die lufttrockene Masse wurde sodann maschinell grobkörnig gepulvert und mit kaltem Benzin entfettet. Nach Abdunsten des letzteren gewinnt man das Präparat als hellbraunes Pulver, dessen wässriger und alkoholischer Auszug keine Blutreaktion gibt, hingegen ist die Adrenalinreaktion (Grünfärbung mit Eisenchlorid) recht kräftig. Eine Entfernung des Adrenalins konnte nicht vorgenommen werden, da durch die Medien, in denen sich das Adrenalin löst (z. B. in verdünnten Säuren) gleichzeitig eine Zerstörung der Enzyme stattgefunden hätte. So mußten alle Versuche im Beisein des Adrenalins vorgenommen werden. Die Frage, ob eine Einwirkung des Adrenalins auf die Enzymwirkung stattfindet, bleibt also offen. Ebenso mußte zunächst davon Abstand genommen werden, Mark- und Rindensubstanz getrennt auf ihre Enzyme und daneben die nur im ersteren zur Geltung kommende Adrenalinwirkung zu unter-

---

[14]) Löb und Gutmann: Zur Kenntnis der Enzyme der Ovarien. Biochemische Zeitschrift 1912. Berlin.

[15]) Tamio Tanaka: Zur Kenntnis der Milzenzyme. Berlin 1913.

[16]) Löb und Higuchi: Zur Kenntnis der Enzyme der Plazenta. Berlin 1910.

[17]) Lucie Buetow: Zur Kenntnis der Hypophysenenzyme. Inaugural-Dissertation. Leipzig 1913.

suchen. Die vorliegende Arbeit dient dem Zwecke einer allgemeinen Orientierung und erstreckt sich auf folgende Punkte:

I. Untersuchung auf Katalasen und Peroxydasen.
II. Untersuchung auf Diastasen.
III. Untersuchung auf Invertasen.
IV. Untersuchung auf glykolytisches Enzym.
V. Untersuchung auf Lezithasen und Lipasen.
VI. Untersuchung auf Enzyme vom Typus des Pepsins und Trypsins.
VII. Untersuchung auf Ureasen.

Experimenteller Teil.

I. Katalasen und Peroxydasen.

Die Katalasen, die, wie bekannt, aus Superoxyden molekularen, also inerten Sauerstoff freimachen, sind im Pflanzen- und Tierreich außerordentlich verbreitet, aber in bezug auf Quantität sehr verschieden verteilt.

Die Peroxydasen unterscheiden sich nach Oppenheimer[18]) von den Katalasen dadurch, daß, während letztere das H_2O_2 nur zerlegen, erstere gleichzeitig Sauerstoff aktivieren.

Versuche.

a) Katalasen.

Etwas Nebennierenpulver wurde mit einigen ccm H_2O_2 versetzt. Es trat eine geringe, aber deutliche Gasbildung ein.

b) Peroxydasen.

In einigen ccm Eisessig gelöstes Bendizin wurde zu mit H_2O_2 versetztem Nebennierenpulver getan:
es trat starke Grünfärbung des Benzidins, also O-Uebertragung durch die Peroxydasen des Pulvers ein.

Katalasen und Peroxydasen sind im Enzympulver vorhanden. Dagegen scheinen beide nicht in die Enzymlösung überzugehen, wie folgende Versuche zeigen: 1 g Pulver

[18]) Oppenheimer: Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1909. Spez. Teil. Seite 341.

wurde mit 20 ccm Aq. dest. 1 Stunde lang auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Mit einigen ccm der filtrierten Lösung wurden die beiden oben angegebenen Versuche ausgeführt, die negativ ausfielen.

II. Diastasen.

Nach Oppenheimer kommt den sacharifizierenden Fermenten eine fast ubiquitäre Gegenwart in den Geweben zu, „da man sie", wie er schreibt, „nicht nur in Milz, Niere, Leber usw. fand, sondern auch im Blut, der Lymphe und den Sekreten, im Harn, im Schweiß, Eiter usw."[19])

So wurde auch in der Nebenniere bereits von A. Croftan[20]) ein diastatisches Ferment nachgewiesen.

Versuche.

a) Spaltung der Stärke.

Die nachfolgenden Tabellen geben die Zusammensetzung der Lösungen an. Von diesen wurden, nach einer bestimmten Dauer der Digestion im Brutschrank bei 37° je 40 ccm mit je 10 ccm kolloidaler Eisenoxydlösung (5 % Fe_2O_3) und 5 ccm einer 10 %igen Natriumsulfatlösung enteiweißt, auf 100 ccm aufgefüllt und filtriert. Von dem Filtrat wurden je 25 ccm nach der Bertrandschen Methode verarbeitet.

Die Werte beziehen sich auf zwei voneinander unabhängige Versuchsreihen. Zu allen Versuchen wurde 1 Vol % Toluol zur Wahrung der Sterilität zugesetzt, zuweilen das doppelte, da sehr leicht Schimmelbildung eintrat. Dieser Zusatz hat sich bei kürzeren Versuchen als ausreichend bewährt, ohne die Enzymwirkung zu schädigen.

---

[19]) Oppenheimer: Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1909. Spez. Teil. S. 26 und 66.

[20]) Vergl. v. Fürth. Gewebschemie. Leipzig 1912.

Tabelle I.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		24 Std. im Brutschr. Best. n. Bertrand: Verbr. von 1/20 N-Kaliumpermanganatlösung ccm	24 Std. im Brutschr. Best. n. Bertrand: Zucker in g auf 100 ccm umgerechnet	Polarisationswerte αD 18,94dz Röhre ccm
1	0,5 % Stärkelösung	50 ccm	6,30	0,0390	0,26
	Pulver	0,5 g	6,20		0,25
	Toluol	0,5 ccm			
2	Aqua dest.	50 ccm	0,30	0,0018	0,00
	Pulver	0,5 g	0,25		0,00
	Toluol	0,5 ccm			
3	0,5 % Stärkelösung	50 ccm	0,70	0,0040	0,14
	Toluol	0,5 ccm	0,40	0,0024	0,10

Tabelle II.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung.		Bestimmung nach Bertrand. Verbr. von 1/20 N-Kaliumpermanganatlösung in ccm: n. 24 Std.	n. 42 Std.	Zucker in g auf 100 ccm umgerechnet: 24 Std.	42 Std.	Polarisationswerte α D 18,94 dz Röhre: n. 24 Std.	n. 42 Std.
1	0,5 % Stärkelösung	50 ccm	6,7	8,0	0,0400	0,0480	0,27	0,34
	Enzymlösung	2 ccm						
	Toluol	0,5 ccm						
2	Aqua dest.	50 ccm	0,5	0,5	0,0025	0,0025	0,00	0,00
	Enzymlösung	2 ccm						
	Toluol	0,5 ccm						
3	0,5 % Stärkelös.	50 ccm	0,6	1,0	0,0029	0,0050	0,11	0,20
	Aqua dest.	2 ccm						
	Toluol	0,5 ccm						

Zur Prüfung auf die Wasserlöslichkeit der Diastase wurden 2 g Pulver in 50 ccm 1 %iger NaCl lösung 1 Stunde

lang auf der Maschine geschüttelt. Die Versuche wurden mit der filtrierten Lösung genau so angesetzt, wie in Tabelle I, nur wurden statt des Pulvers je 2 ccm der Enzymlösung genommen.

Aus den Versuchen geht unzweideutig hervor, daß die Nebennieren eine kräftig wirkende lösliche Diastase enthalten.

b) Spaltung des Glykogens.

Die Diastasen verhalten sich nach den Feststellungen von Muskulus und v. Mehring[21]) Stärke und Glykogen gegenüber gleich. Es ist auch tatsächlich durch diejenigen Organe, welche eine Stärke spaltende Diastase enthalten, stets eine Glykogenspaltung erzielbar, wie aus den oben angeführten

Tabelle III.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		24 Stunden im Brutschrank Zuckerbestimm. n. Bertrand	
			Verbrauch von $^1/_{20}$ Normal-kaliumpermanganatlös. in ccm	Zucker in g auf 100 ccm umgerechnet
1	Glykogen	0,2 g	8,85	0,0510
	Pulver	0,5 g		
	Aqua dest.	50 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
2	Pulver	0,5 g	1,4	0,0064
	Aqua dest.	50 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
3	Glykogen	0,2 g	3,0	0,0180
	Aqua dest.	50 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		

[21]) Vergl. Oppenheimer: Die Fermente und ihre Wirkungen. Spez. Teil.

Arbeiten über Organenzyme hervorgeht. Ovarien, Milz, Hypophyse, Plazenta zeigten diese doppelte Wirkung. Ebenso war der Versuch der Glykogenspaltung durch die Diastase der Nebennieren positiv.

Um den Einfluß des Kochens auf die Diastase festzustellen, wurden vergleichende Versuche angesetzt, in denen eine Mischung — sowohl mit Enzympulver wie mit Enzymlösung — vor dem Einsetzen in den Brutschrank aufgekocht wurde. Wie die Resultate zeigen, wird die Diastase durch Kochen zum größten Teil zerstört.

Tabelle IV.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		48 Stunden in Brutschrank Zuckerbestimmung nach Bertrand.	
			Verbr. v. $^1/_{20}$ N-Kaliumpermanganatlösung	Zucker in g auf 100 ccm umgerechnet
1	Glykogen	0,3 g	7,2 ccm	0,0425
	Aqua dest.	50 ccm		
	Enzymlösung	2 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
2	Glykogen	0,3 g	2,2 ccm	0,0102
	Aqua dest.	50 ccm		
	Enzymlös. vorher aufgek.	2 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
3	Glykogen	0,3 g	1,4 ccm	0,0064
	Aqua dest.	50 ccm		
	Aqua dest.	2 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
4	Aqua dest.	50 ccm	1,1 ccm	0,0051
	Enzymlösung	2 ccm		

Tabelle V.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		48 Stunden in Brutschrank Zuckerbestimmung nach Bertrand.	
			Verbr. v. $^1/_{10}$ N-Kalium-permanganatlösung	Zucker in g auf 100 ccm umgerechnet
1	Glykogen	0,3 g	5,4 ccm	0,0350
	Aqua dest.	50 ccm		
	Pulver	0,1 g		
	Toluol	0,5 ccm		
2	dieselbe Mischung wie 1, vorher aufgekocht		0,4 ccm	0,0024
3	Glykogen	0,3 g	1,2 ccm	0,0051
	Aqua dest.	50 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
4	Aqua dest.	50 ccm	0,5 ccm	0,0025
	Pulver	0,1 g		

Die in der Nebenniere gefundenen Werte sind etwas höher, als die unter sonst gleichen Bedingungen in den oben angeführten Organen gefundenen. Dies bezieht sich noch mehr auf den Abbau des Glykogens als auf den der Stärke. Wir stellten uns deshalb die Frage, ob wohl ein Einfluß des Adrenalins auf den Abbau des Glykogens nachzuweisen wäre. Wie bereits erwähnt, bestehen große Schwierigkeiten, das Adrenalin zu entfernen. Ich versuchte, die Extraktion des Adrenalins mit absolutem Alkohol durchzuführen, der die Diastasen nicht zerstört. Nach längerem Schütteln des Pulvers in Alkohol auf der Schüttelmaschine und Filtration erhielt ich aber in dem Filtrat nur eine ganz schwache Adrenalinreaktion, während sie in dem ausgeschüttelten Pulver sehr stark blieb. Das Adrenalin ist also, wie Kobert[22])

[22]) Kobert. Lehrbuch der Intoxikationen. II. Band. Spez. Teil. Seite 1238. Stuttgart 1906.

schon angibt, gegenüber anderen Angaben nur in Spuren in Alkohol löslich. Ich versuchte deshalb, ob durch Adrenalinzusatz eine nach irgendeiner Seite hin bemerkbare Beeinflussung der Zuckermobilisierung in Erscheinung träte. Zu dem Zwecke wurden die in den folgenden Tabellen angegebenen Versuche angestellt. Die angewandte Epirenanlösung war 1 $^0/_{00}$.

Tabelle VI.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		36 Std. im Brutschrank Zuckerbest. n. Bertrand	
			Verbr. v. $^1/_{20}$ N-Kaliumpermanganatlösung in ccm	Zucker in g umgerechnet auf 100 ccm
1	0,5 % Stärkelösung	50 ccm	14,0	0,0850
	Aqua dest.	5 ccm		
	Pulver	0,2 g		
	Toluol	0,5 ccm		
2	dieselbe Mischung wie 1, vorher aufgekocht		1,2	0,0051
3	0,5 % Stärkelösung	50 ccm	19,3	0,1200
	Epirenanlösung	5 ccm		
	Pulver	0,2 g		
	Toluol	0,5 ccm		
4	dieselbe Mischung wie 3, vorher aufgekocht		1,15	0,00508
5	0,5 % Stärkelösung	50 ccm	1,0	0,00500
	Aqua dest.	5 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
6	0,5 % Stärkelösung	50 ccm	1,1	0,00508
	Epirenanlösung	5 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		

Hiernach schien es, als ob durch den Zusatz von Epirenan eine Steigerung im Stärkeabbau stattfände. Ich schüttelte

zu weiteren Versuchen 2 g Pulver in 100 ccm physiologischer NACl-Lösung, filtrierte und nahm von dieser Lösung je 5 ccm zu den folgenden Versuchen. Ein Teil der Enzymlösung wurde vor dem Zusatz zur Reaktionsmischung aufgekocht.

Tabelle VII.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		24 Std. im Brutschrank Zuckerbest. n. Bertrand	
			Verbr. von $^1/_{20}$ N-KMO_4-Lösung in ccm	Zucker in g umgerechnet auf 100 ccm
1	0,5 % Stärkelösung	50 ccm	16,6	0,1060
	Aqua dest.	5 ccm		
	Enzymlösung	5 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
2	0,5 % Stärkelösung	50 ccm	9,9	0,0560
	Epirenanlösung	5 ccm		
	Enzymlösung	5 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
3	Dasselbe wie 2 mit vorher aufgekochter Lösung		2,65	0,0110
4	0,5 % Stärkelösung	50 ccm	2,55	0,0100
	Aqua dest.	10 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
5	0,5 % Stärkelösung	50 ccm	1,85	0,0076
	Aqua dest.	5 ccm		
	Epirenanlösung	5 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		

In der folgenden Tabelle VIII ist die Zusammensetzung der Mischungen genau dieselbe wie in Tabelle VII, nur wurde an Stelle der Stärkelösung eine ebenfalls 0,5 %ige Glykogenlösung genommen.

Tabelle VIII.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		24 Std. im Brutschrank Zuckerbest. n. Bertrand	
			Verbr. von $^1/_{20}$ N-KMO_4-Lösung in ccm	Zucker in g umgerechnet auf 100 ccm
1	0,5 % Glykogenlösung	50 ccm	7,5	0,0400
	Aqua dest.	5 ccm		
	Enzymlösung	5 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
2	0,5 % Glykogenlösung	50 ccm	7,6	0,0400
	Epirenanlösung	5 ccm		
	Enzymlösung	5 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
3	Dasselbe wie 2 mit vorher aufgekochter Enzymlösung		3,9	0,0160
4	0,5 % Glykogenlösung	50 ccm	2,2	0,0090
	Aqua dest.	10 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
5	0,5 % Glykogenlösung	50 ccm	0,6	0,0029
	Aqua dest.	5 ccm		
	Epirenanlösung	5 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		

Aus Versuch 3, 4, 5 der Tabellen VII und VIII geht hervor, daß Stärke und Adrenalin, ebenso wie Glykogen und Adrenalin, nur geringe Reduktionswerte ergaben. Demgegenüber scheint nach Versuch 1 und 2 der Tabelle VII die diastatische Wirkung gegen Stärke (im Gegensatz zu Versuch 1 und 2 der Tabelle VI, der mit Enzympulver angesetzt wurde) durch Adrenalin etwas gehemmt. Da aber für Glykogen diese Hemmung nicht konstatierbar war (vgl. Tabelle VIII, 1 und 2) und eine Wiederholung der Versuche kein eindeutiges Resultat ergab, so muß die Adrenalin-

wirkung auf Diastase, die, wenn sie vorhanden, jedenfalls äußerst gering ist, vorläufig noch als fraglich bezeichnet werden.

III. Invertase.

Die Rohrzucker spaltende Invertase gehört zu den speziellen Enzymen, während die Diastasen als allgemeine Zellenzyme zu bezeichnen sind. Sie ist von Löb in frischem Plazentabrei, nicht aber in trockenem Plazentapulver und von Tanaka in der Schweinemilz nachgewiesen worden, fand sich dagegen weder im Ovarien- noch im Hypophysenpulver. Nach Oppenheimer ist sie auch in Hühner- und Froscheiern enthalten. Meine Versuche ergeben folgende Resultate:

Tabelle IX.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		Reduktionswerte nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
1	Pulver	0,5 g			
	Rohrzucker	1 g	1,0	1,9	0,8
	0,9 %ige NaCl-Lösung	200 ccm	1,1	1,8	1,0
	Toluol	2,5 ccm			
2	Pulver	0,5 g			
	0,9 %ige NaCl-Lösung	200 ccm	0,1	0,8	0,3
	Toluol	2,5 ccm	0,1	0,7	0,4
8	Rohrzucker	1 g			
	0,9 % NaCl-Lösung	200 ccm	2,0	2,1	1,4
	Toluol	2,5 ccm	2,2	2,2	1,5

Zur Analyse wurden je 40 ccm der filtrierten Mischungen mit kolloidaler Eisenoxydlösung unter Zusatz von Natriumsulfat und Wasser auf 100 ccm gebracht, filtriert und je 25 ccm der Filtrate nach Bertrand verarbeitet. Die Angaben in vorstehender Tabelle beziehen sich auf 2 von einander

unabhängige Versuche. Die Werte geben den Verbrauch von $^1/_{20}$ N—$KMnO_4$-Lösung an.

Eine Invertase ist nicht vorhanden.

IV. Glykolytisches Enzym.

Es besteht ein Zwiespalt der Meinungen in bezug auf die Existenz eines glykolytischen Enzyms überhaupt. Oppenheimer[23]) sieht es als einen Fehler an, daß bei den Untersuchungen auf glykolytisches Enzym oft nur das Verschwinden der entsprechenden Zuckerart, nicht aber die aus ihr gebildeten neuen Produkte nachgewiesen wurden. „Das Verschwinden von Zucker ist an sich noch kein Beweis für das Vorhandensein eines solchen Fermentes", schreibt er. Es ist auch bisher noch nicht sicher erwiesen, ob das Pankreas ein echtes glykolytisches Ferment enthält oder ob es ein die übermäßige Zuckerbildung aus Leberglykogen hinderndes Hormon in das Blut entsendet. Löb und Gutmann schreiben in ihrer Arbeit: „Zur Kenntnis der Enzyme der Ovarien": „es sei bisher keinem trotz mannigfacher Untersuchungen über Organenzyme geglückt, ein glykolytisches, d. h. Traubenzucker ohne Mitwirkung des Sauerstoffs zerstörendes Enzym zu finden."

In Neusser und Wiesel „Die Erkrankungen der Nebennieren" heißt es Seite 75:

„Lipase, Amylase sowie das glykolytische Ferment der Nebennieren werden durch Adrenalin vermindert." Es ist mir, wie unten folgender Versuch zeigt, nicht gelungen, ein glykolytisches Ferment in den Nebennieren nachzuweisen, ebensowenig wie die Gegenwart einer Lipase.

Versuch.

5 g Traubenzucker wurden in 500 ccm physiologischer NaCl-Lösung gelöst. Diese 1 %ige Lösung wurde für den Versuch verwendet.

---

[23]) Die Fermente und ihre Wirkungen. Spez. Teil. Seite 477.

Tabelle X.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		48 Std. im Brutschrank Zuckerbest. n. Bertrand	
			Verbr. v. $\frac{1}{20}$ N-$KMnO_4$-Lösung in ccm	Zucker in g umgerechnet auf 100 ccm
1	Traubenzuckerlös.	50 ccm		
	Pulver	0,2 g	12,55	0,1950
	Aqua dest.	5 ccm		
	Toluol	0,5 ccm		
2	Traubenzuckerlösung	50 ccm	12,6	0,1950
	0.2 g Pulver mit 5 ccm Aq. dest. vorher gekocht			
	Toluol	0,5 ccm		
3	Traubenzuckerlös.	50 ccm	13,0	0,2000
	Toluol	0,5 ccm		
4	Traubenzuckerlös.	50 ccm		
	Enzymlösung	5 ccm	14,6	0,2150
	Toluol	0,5 ccm		
5	Dieselbe Mischung wie 4, vorher aufgekocht		14,3	0,2150

Zu No. 4 und 5 der Tabelle wurde 1 g Pulver mit 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung auf der Schüttelmaschine 1 Stunde lang geschüttelt. Von der filtrierten Enzymlösung wurden je 5 ccm verwendet.

Nachdem die Mischungen 48 Stunden im Brutschrank gestanden, wurden sie quantitativ in Meßkolben übergeführt und mit je 20 ccm kolloidaler Eisenoxydlösung unter Zusatz von Natriumsulfat und Wasser auf je 250 ccm aufgefüllt. Von den Filtraten wurden je 10 ccm nach Bertrand verarbeitet.

V. Lezithase und Lipase.

Beide Fermente wurden in den Ovarien, Lipase wurde in der Milz nachgewiesen. In der Plazenta fand sich kein fettspaltendes Ferment, in der Hypophyse wurde keine echte Lipase, sondern nur ein esterspaltendes Ferment, die Tributyrinase, nachgewiesen. Wie bekannt, ist die echte Lipase ein Hauptferment des Pankreas.

Versuche.

1 g Lezithin wurde in 20 ccm absolutem Alkohol gelöst, dann mit Wasser bis zu 500 ccm aufgefüllt. Diese 0,2 %ige Lezithinlösung wurde für die folgenden Versuche verwendet.

Die Lezithinlösung sowohl wie das mit Wasser versetzte Pulver wurden jedes für sich mit Phenolphthalein als Indikator neutralisiert. Da in dem Pulver sauer reagierende Peptone vorhanden sind, so wurden stets mehrere Tropfen $^1/_{10}$ N-Natronlauge bis zur Neutralisation verbraucht.

Tabelle XI.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	24 Std. im Brutschr. Verbr. von $^1/_{10}$ N-NaOH i. Tr.
1	10 ccm Lezithinlösung neutral	60
	0,5 g Pulver „	45
	10 ccm Aqua dest. „	
	0,2 g Toluol	45
2	Dieselbe Mischung wie 1, vorher aufgekocht	37
	0,2 Toluol	

Die angegebenen Werte beziehen sich wieder auf zwei

Versuche. Es wurden zu jeder Mischung, nachdem sie aus dem Brutschrank kam, 20 ccm absoluter Alkohol getan (in dem sich die etwa gebildeten Fettsäuren sicher lösen sollten), da die bräunliche Farbe der Mischungen in konzentrierter Lösung die Titration etwas erschwert hätte. Von den Filtraten wurden je 25 ccm titriert.

Lezithase ist nach den geringen Differenzen nicht vorhanden. Der Lipasenversuch wurde mit durch Lösen in Aether, Filtration und Verdunstung des Aethers im Vakuum über Schwefelsäure gereinigtem Butterfett von neutraler Reaktion angestellt. Die Mischungen blieben 24 Stunden im Brutschrank in Reagensgläsern, wurden dann mit destilliertem Wasser in Erlenmeyerkölbchen quantitativ übergespült und mit Phenolphthalien als Indikator titriert.

Tabelle XII.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	24 Std. im Brutschr. Verbr. von $^1/_{10}$ N-NaOH i. ccm
1	2 ccm flüssige Butter, 0,5 g Pulver	3,1
	0,5 ccm Wasser	3,3
	einige Tropfen Toluol	
2	idem, 10 Minuten über Wasserbad gekocht	2,7
		2,8
3	2 ccm flüss. Butter, 0,5 ccm Wasser	0,1
	einige Tropfen Toluol	0.1
4	0,5 g Pulver, 0,5 ccm Wasser	3,3
	einige Tropfen Toluol	4,0

Abänderung des Versuches nach Salkowski.[24])
Je 0,2 g Pulver, gekocht und ungekocht, wurden mit

[24]) Vergl. Löb und Gutmann: „Zur Kenntnis der Enzyme der Ovarien".

einer Emulsion von 1 ccm flüssiger Butter in 5 ccm Wasser, die vorher mit Rosolsäure als Indikator gegen $^1/_{10}$ N—NaOH neutralisiert worden war, versetzt. Bei der Mischung erfolgte wieder durch die Peptone des Pulvers ein Umschlag in Gelb, der eine neue Neutralisation nötig machte. Darauf kamen beide Proben für 24 Stunden in den Brutschrank. Die ungekochte Probe brauchte 0,6 ccm, die gekochte 0,4 ccm einer 2 %igen Sodalösung zur Neutralisation.

Aus beiden Versuchen, sowohl dem ersten, nach der von Löb und Higuchi angegebenen Methode, als auch dem letzten geht hervor, daß eine Lipase in den Nebennieren nicht vorhanden ist.

VI. Enzyme vom Typus des Pepsins und des Trypsins.

Das Pepsin spaltet in schwach saurer Lösung die Albumine zu Albumosen und Peptonen. Es ist nach den bisher angestellten Versuchen ziemlich häufig in den Organen gefunden worden, so in der Hypophyse, in der Plazenta, der Milz und den Ovarien. Es gehört, ebenso wie das Trypsin, zu den allgemeinen Zellenzymen.

Versuche.

Zum Nachweis der peptischen Wirkung des Nebennierenpulvers wurde reinstes Casein benutzt. Nach 24 stündiger Digestion bei 37 ° wurden die Mischungen filtriert und je 20 ccm der Filtrate nach Kjeldahl auf den Gehalt an gelösten Stickstoffverbindungen geprüft.

Tabelle XIII.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		24 Stunden im Brutschrank	
			Verbrauch an $^1/_{10}$ N-H_2SO_4 in ccm	Stickstoff in g auf 100 ccm umgerechnet
1	Casein	0,5 g	13,2	0,0924
	Pulver	0,5 g	11,5	0,0805
	Aqua dest.	50 ccm	12,0	0,0840
	Toluol	1 ccm		
2	Pulver	0,5 g	4,4	0,0308
	Aqua dest.	50 ccm	5.6	0,0392
	Toluol	1 ccm	5,6	0,0392
3	Casein	0,5 g	0,6	0,0042
	Aqua dest.	50 ccm	0,8	0,0056
	Toluol	1 ccm	1,2	0,0084

Die Werte beziehen sich auf 3 voneinander unabhängige Versuchsreihen. Ein peptisch wirkendes Ferment ist also auch in der Nebenniere vorhanden.

Der Versuch wurde wiederholt mit einem Zusatz von 50 ccm einer 0,25 %igen Salzsäure statt des destillierten Wassers. Die Prüfung des Reststickstoffs im entscheidenden Versuch ergab keine Erhöhung desselben im Vergleich zu den bereits angeführten Werten, so daß also eine gesteigerte Wirkung des peptischen Fermentes in salzsaurer Lösung nicht nachgewiesen werden konnte. Dieser negative Befund ist erklärlich, da die in dem Pulver vorhandenen Peptone bereits für eine genügend saure Reaktion sorgten.

Trypsin spaltet bekanntlich aus Pepton außer anderen Aminosäuren Tyrosin ab. Da dasselbe wegen seiner Schwerlöslichkeit leicht isolierbar ist und charakteristische Kristallform besitzt, so eignet es sich, wie Abderhalden gezeigt hat, zum Nachweis der tryptischen Wirkung. Besonders reich an der Tyrosinkomponente ist das Seidenpepton.

Versuche.

Es wurde deshalb so verfahren, daß 10 ccm einer 20 %igen Seidenpeptonlösung mit 0,5 g Pulver, einigen Tropfen Soda bis zur schwach alkalischen Reaktion (Trypsin wirkt bekanntlich nur in alkalischer Lösung) und etwas Toluol zusammengebracht wurden. Von den doppelt hergestellten Mischungen wurde die eine aufgekocht. Nach 48stündiger Digestion bei 37° führte ich zur Prüfung auf Tyrosin beide Mischungen mit je 100 ccm Methylalkohol in Schüttelfläschchen quantitativ über und ließ $^1/_4$ Stunde lang auf der Maschine schütteln. Nach Abkühlung der Mischung auf Eis wurde unter Nachwaschen mit Methylalkohol filtriert. Die Filter und der Filterrückstand wurden mit ammoniakalischem Alkohol auf dem Wasserbade aufgekocht. Darauf nochmaliges Filtrieren durch ein trockenes Filter, Eindampfen der Filtrate auf ungefähr 10 ccm, die in Zentrifugenröhrchen auf Eis gestellt und zentrifugiert wurden. Den Bodensatz prüfte ich auf Tyrosinkristalle unter dem Mikroskop. Es fanden sich bei dem ebenfalls doppelt angestellten Versuche beide Male typische Tyrosinkristalle, wenn auch in geringer Zahl, so daß auf das Vorhandensein eines tryptisch wirkenden Fermentes geschlossen werden kann.

VII. Urease.

Die Urease ist ein harnstoffspaltendes Ferment, das nach Oppenheimer[25]) von Muskulus zuerst im Harn gefunden wurde und zwar besonders „in dem dickflüssigen, schleimigen, ammoniakalischen Cystitisharn. Es wirkt ganz spezifisch nur auf Harnstoff, den es in Ammoniak und Kohlensäure spaltet.“ Eine Urease wurde in Milz, Hypophyse und Ovarien nachgewiesen, dagegen nicht in der Plazenta.

---

[25]) Vergl. Oppenheimer: Die Fermente und ihre Wirkungen. Spez. Teil. S. 162.

Versuche.

Der Versuch wurde gleichzeitig in 2 Gruppen angesetzt; die Bestimmung geschah nach 4 und 6tägiger Digestion und zwar nach 4 Tagen mit der ersten, nach 6 Tagen mit der zweiten Gruppe. Der Toluolzusatz wurde vom 2. Tage an täglich erneuert. Die Mischungen wurden mit je 25 ccm kolloidaler Eisenoxydlösung und Natriumsulfat enteiweißt, mit Aqua destillata auf 250 ccm aufgefüllt und filtriert. Von den Filtraten wurden je 100 ccm mit 2 g Magnesia usta versetzt und das etwa entstandene Ammoniak im Vakuum aus einem Wasserbad bei 40° vollständig abgetrieben und im Destillat bestimmt. In der Tabelle sind die zur Neutralisation verbrauchten Mengen $^1/_{10}$ N-H_2SO_4 angegeben.

Tabelle XIV.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		4 Tage Verbrauch an ccm	6 Tage $^1/_{10}$ N-H_2SO_4 ccm
1	0,4 % ige Harnstofflös.	50 ccm		
	Pulver	0,5 g	0,4	0,5
	Toluol	1 ccm		
2	physiologische Kochsalzlös.	50 ccm		
	Pulver	0,5 g	0,2	0,3
	Toluol	1 ccm		
3	Harnstofflösung 0,4 %	50 ccm		
	Toluol	1 ccm	0,0	0,0

Eine Urease ist nicht vorhanden.

Zusammenfassung.

In den Nebennieren sind also nachgewiesen: Katalasen und Peroxydasen, eine stark wirkende, Stärke und Glykogen spaltende Diastase, ferner Enzyme vom Typus des Pepsins

und des Trypsins. Dagegen fehlen glykolytisches Enzym, Lezithase, Lipase, Invertase und Urease.

Es gelang demnach bisher nur, die allgemeinen Zellenzyme mit Sicherheit festzustellen, während kein Anhaltspunkt gewonnen wurde, daß spezielle Organenzyme, die mit den Funktionen der Nebennieren zusammenhängen und auf den Zuckerabbau, auf Fett- und Harnstoffspaltung Einfluß besitzen, in dem Organ selbst lokalisiert sind.

Die Arbeit wurde von Mitte Februar bis Mitte Juni 1915 in der chemischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses ausgeführt. Herrn Professor Dr. Löb, Vorsteher der chemischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses Berlin, spreche ich auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank aus für die gütige Unterstützung, die er dieser Arbeit zuteil hat werden lassen.

Lebenslauf.

Am 24. August 1879 wurde ich, Elisabeth Titze, geb. Klinger als Tochter des praktischen Tierarztes und Veterinärrats Klinger in Großdobritz bei Meißen (Königr. Sachsen) geboren. Ich bin evangelischer Konfession. Ich besuchte die höhere Mädchenschule zu Meißen, verbrachte später mehrere Jahre in England und Frankreich und bereitete mich in den Jahren 1906—1908 privatim für das Abiturientenexamen vor, das ich am Berliner Königstädtischen Realgymnasium Michaelis 1908 bestand. Darauf studierte ich Medizin und zwar mit Ausnahme meines ersten klinischen Semesters, das ich an der Universität Greifswald verbrachte, an der Königlichen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin. Hier bestand ich im Februar 1911 das Vorexamen und am 16. Februar 1914 das Staatsexamen, arbeitete darauf $3\frac{1}{2}$ Monate als Medizinalpraktikantin an der Chiurgischen Poliklinik der Kgl. Charité bei Herrn Professor Hildebrand. Am 11. August 1914 erhielt ich die Approbation. Von Anfang September 1914 bis 1. Juli 1915 war ich als Assistenzärztin im Rudolf Virchow-Krankenhause tätig, und zwar drei Monate auf der gynaekologischen Abteilung des Herrn Professor Koblanck und sieben Monate auf der Inneren Abteilung von Herrn Professor Brandenburg. Seit September 1911 bin ich verheiratet.